Thema der Vorlesung

Antibiotika

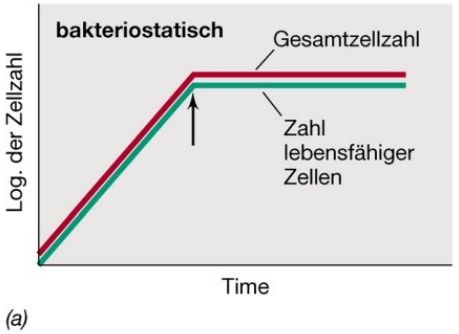
Übersicht
Wirkmechanismen

Definition für ein Antibiotikum

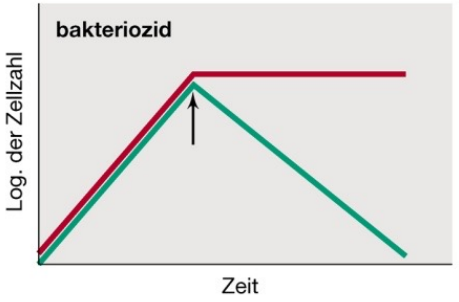
antibakterielle Wirkung
- breites Spektrum: aktiv gegen viele Gram-positive und Gram-negative Mikroorganismen (MO)
- enges Spektrum: aktiv nur gegen wenige MO

bakteriostatisch
Inhibition des Wachstums, nicht letal für die MO
bakteriozid
letal für die MO
bakteriolytisch
Lyse der Zellen, letal für die MO

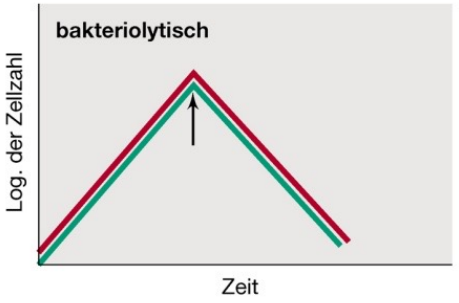
Die geringste Konzentration, die 99.9% der Population abtötet, heisst Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
Die MIC muss experimentell bestimmt werden



(a)

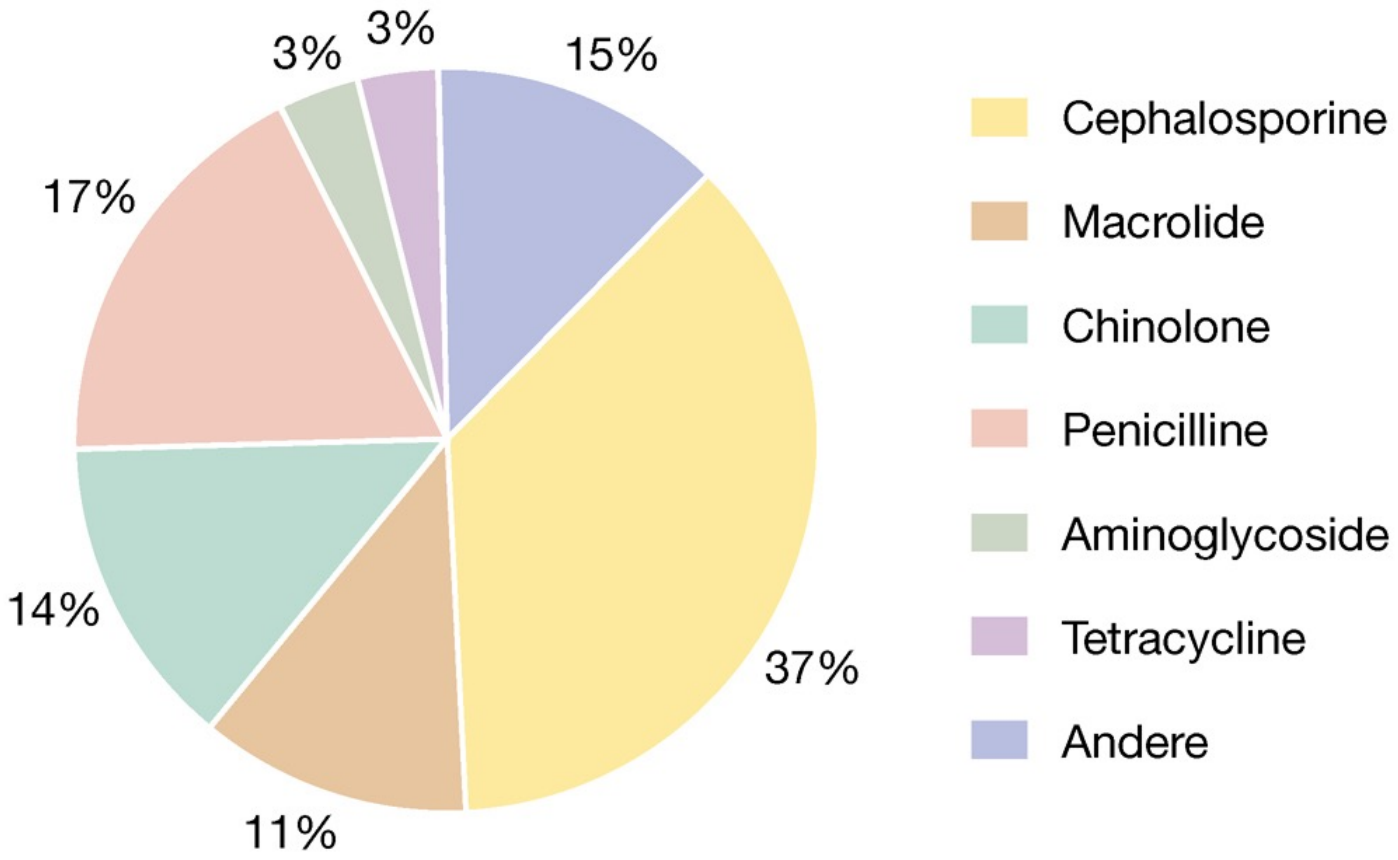


(b)



(c)

Weltweiter Gebrauch und Produktion von Antibiotika



	Kilogramm eingesetzt	
Antibiotikum	Tiere (1996)	Mensch (1996 or 1997/98)
Cephalosporine (Beta-Lactame)	121.603	314.498
Tetracyclin	323.151	47500
Aminoglycoside (e.g. Streptomycin)	37.058	5.409
Macrolides (e.g. Erythromycin)	71.222	47.696

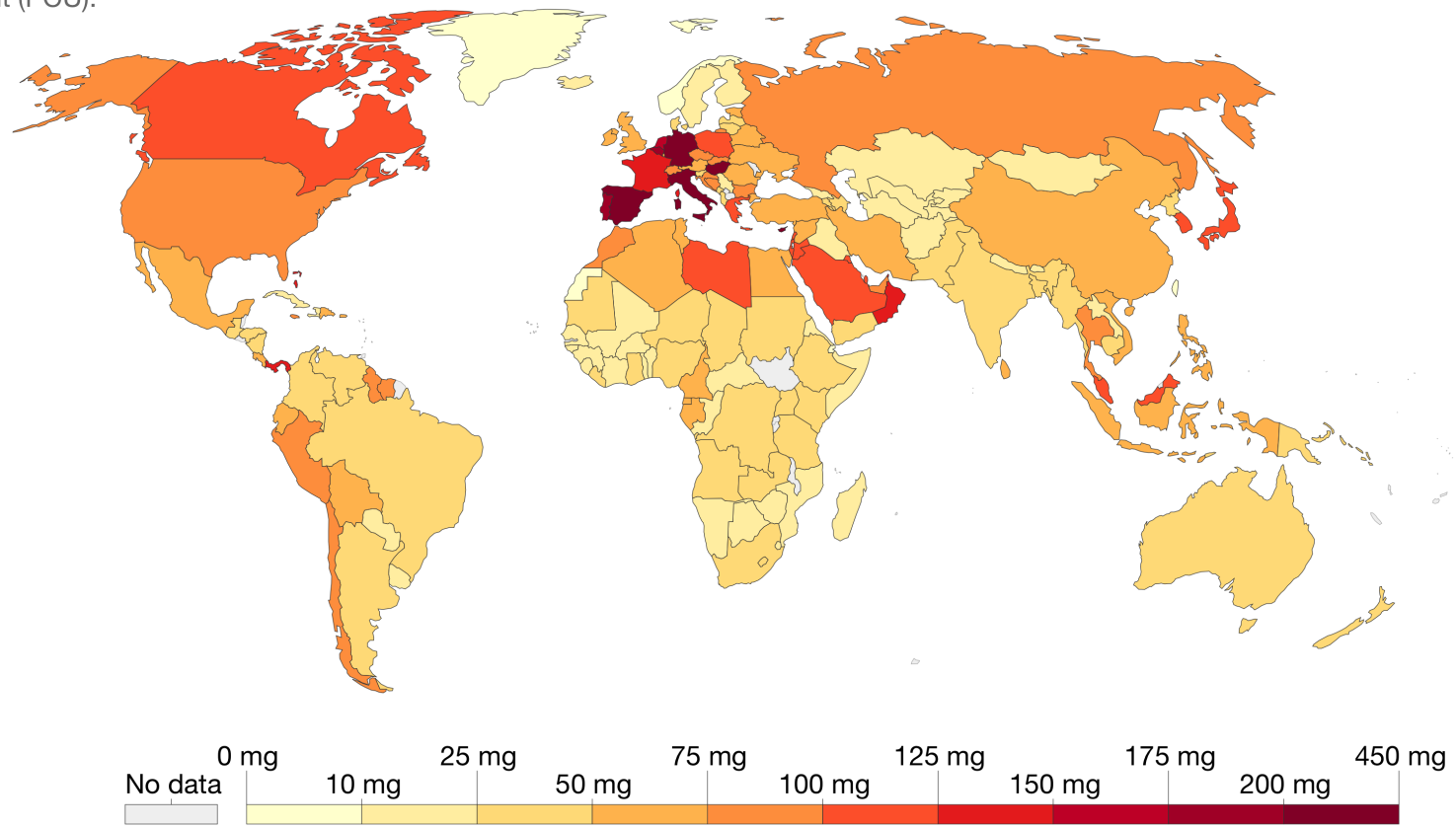
>50% der in den USA produzierten AB werden in der Tieraufzucht verwendet:
Mellon M, Benbrook C, Benbrook K L. Hogging It: Estimates of Antimicrobial Abuse in Livestock. Washington, DC: Union of Concerned Scientists; 2001

J. Harvey and L Mason. 1998

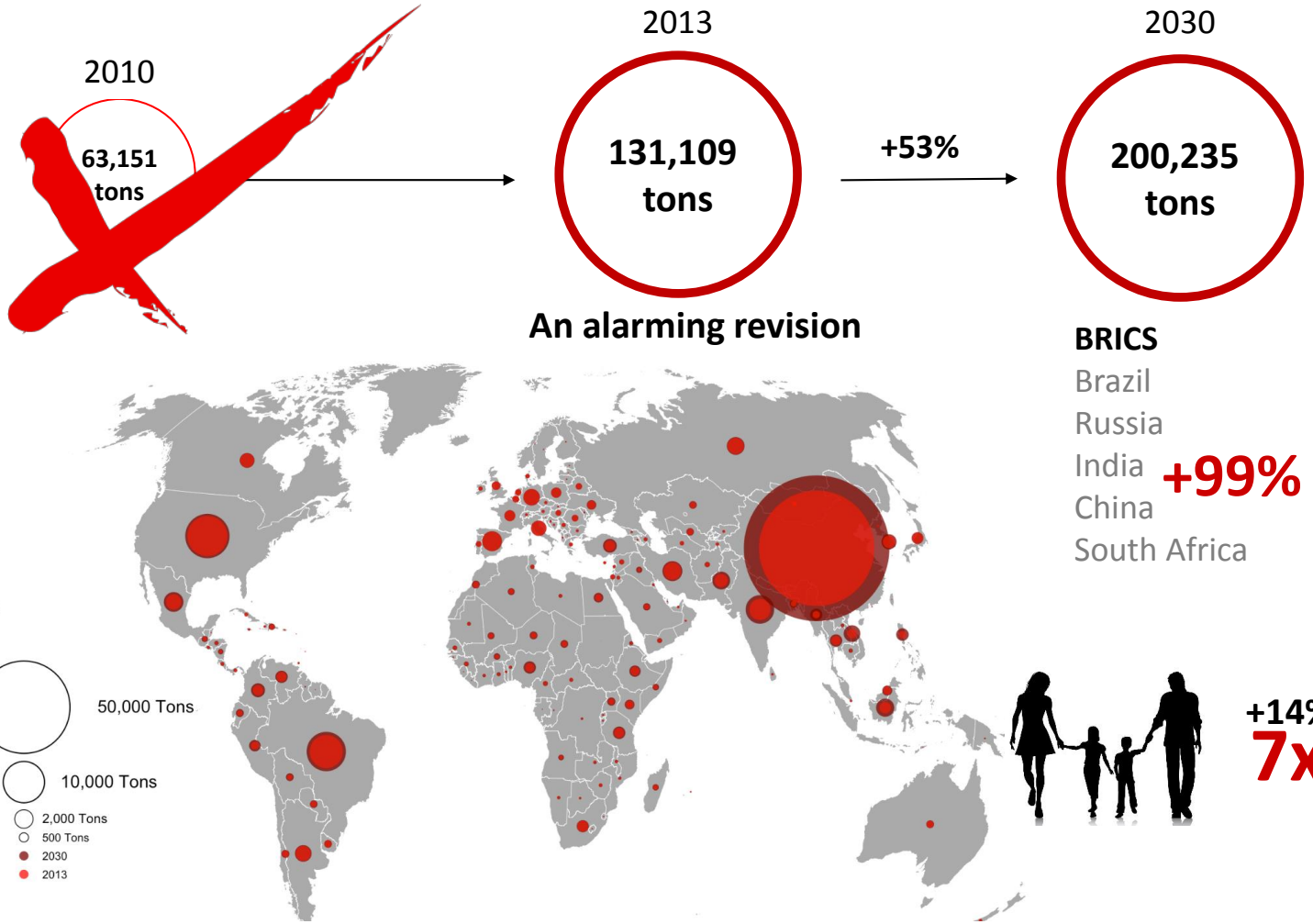
Antibiotic use in livestock, 2010

Our World in Data

Antibiotics are used in livestock for animal health and productivity, but also pose a risk for antibiotic resistance in both humans and livestock. Data is measured as the milligrams of total antibiotic use per kilogram of meat production. This is corrected for differences in livestock numbers and types, normalising to a population-corrected unit (PCU).



Source: European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (2017) & Van Boeckel et al. (2015)
OurWorldInData.org/antibiotic-resistance-from-livestock • CC BY

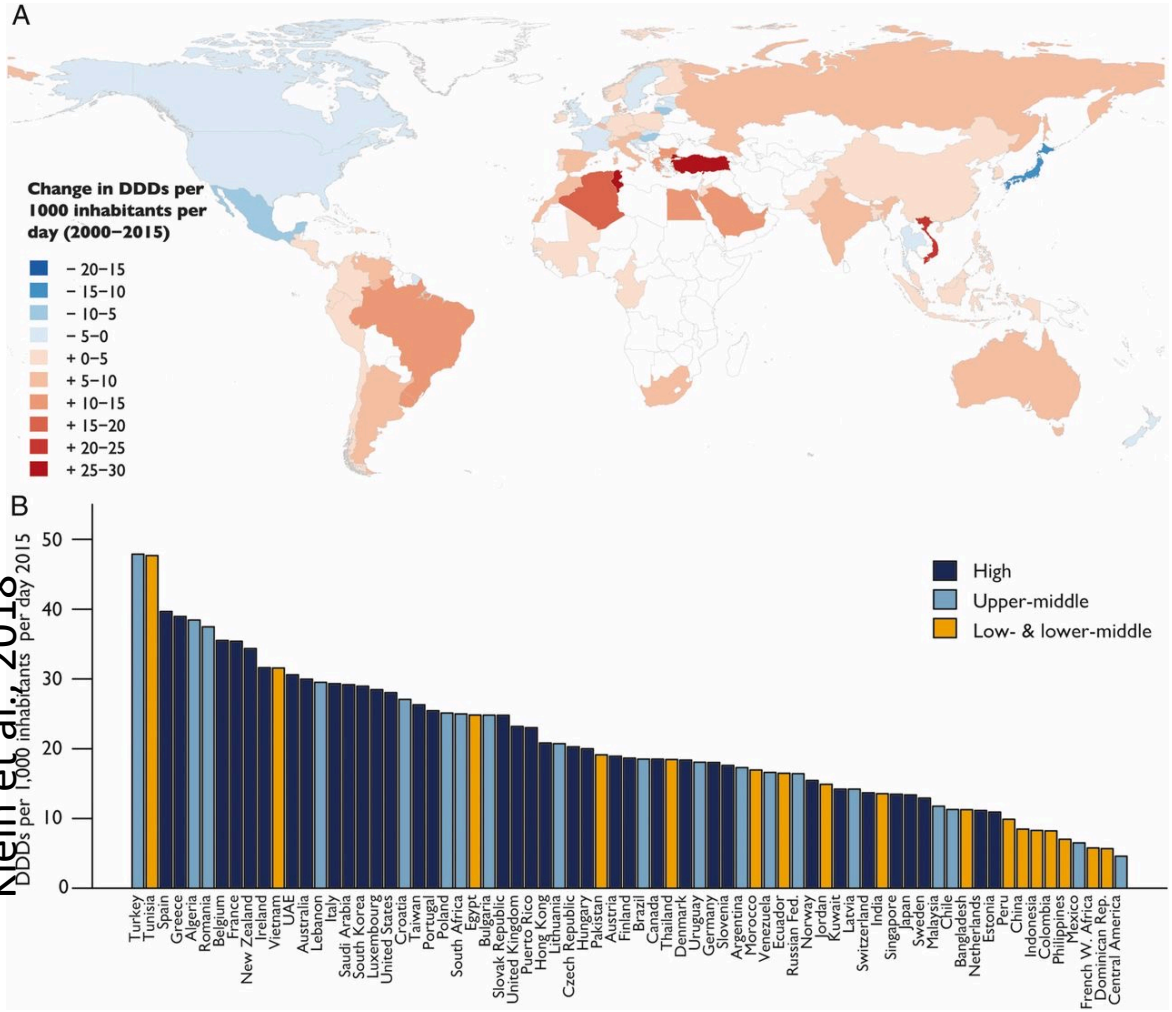


Van Boeckel et al. 2017, *Science.*

Global antibiotic consumption by country: 2000–2015.

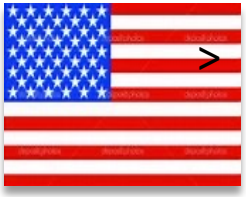
https://www.pnas.org/content/115/15/E3463

Klein et al., 2018



Folgen der **Akkumulation antibiotikaresistenter Keime**
(Stand 2014)

Europa	>25.000 Todesfälle	1.500.000.000 €	direkt



USA	23.000 Todesfälle	55.000.000.000 US$	gesamt

Renwick et al., 2015;
Blair, et al., 2015

Problem: Entwicklung von **Resistenzen** durch Nutzung von Antibiotika in der Landwirtschaft

- 5 von 90 Proben aus einer Fleischanalyse(Schwein) im Supermarkt wurden positiv auf Methicillin-resistente Staphylococcus aureus oder MRSA-Erreger getestet

Journal of Applied Environmental Microbiology, 2008 Oct 31; 75(1): 265-7

- 90.000 Infektionen in den USA mit MRSA Keimen; davon 18.000 Todesfälle – das sind 10 % mehr Todesfälle als durch HIV/AIDS

Journal of the American Medical Association, October 2007

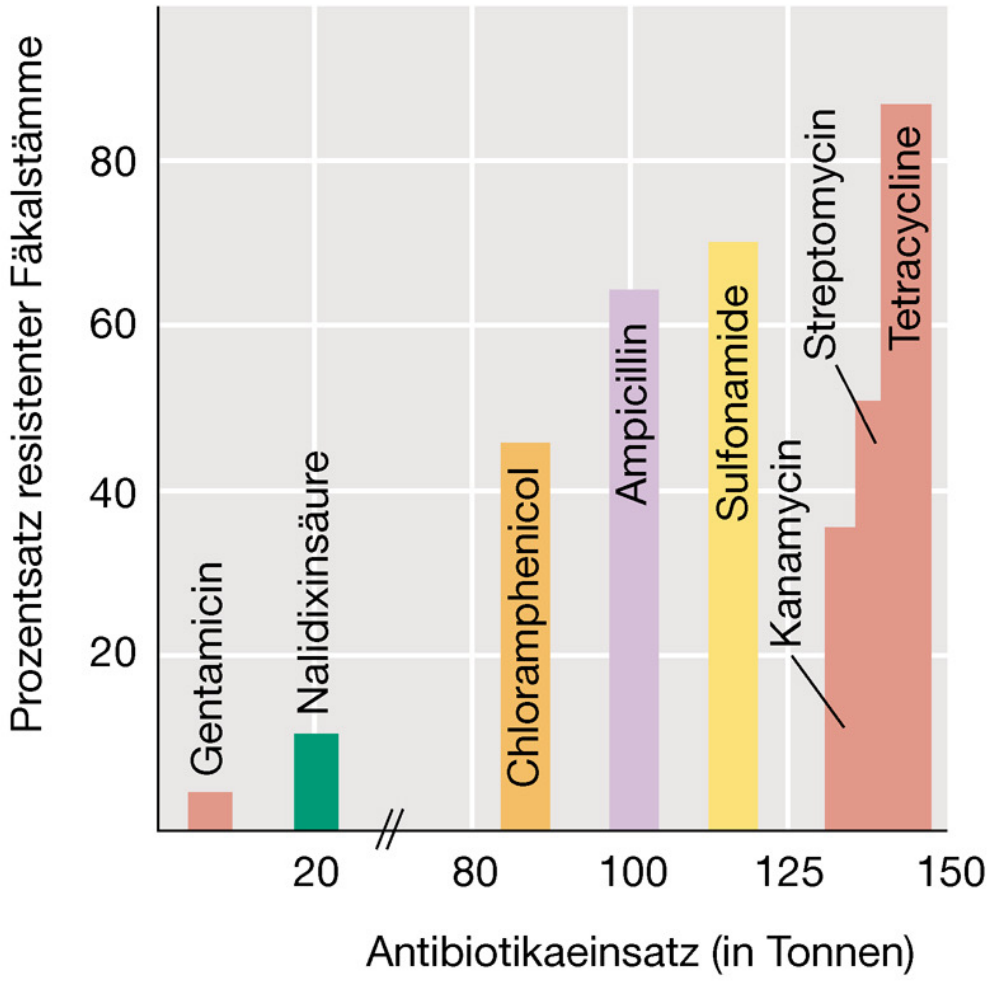
Seit 1998 bzw. seit in 2006 keinen Einsatz mehr zu Zwecken der Wachstumssteigerung in der EU

Einsatz von Antibiotika im wesentlichen zur:

- Behandlung von Infektionen im klinischen Bereich
- Prophylaktik: Einsatz im Haushalt, Spülmaschinen, Seifen, sogar Cutting boards, etc.
- Landwirtschaft: Tierfutter (Mastfutter), Konservierung (Fische), etc.
- Forschung: Entwicklung neuer Antibiotika, selektierbare genetische Marker

Der industrielle Einsatz von Antibiotika steigt

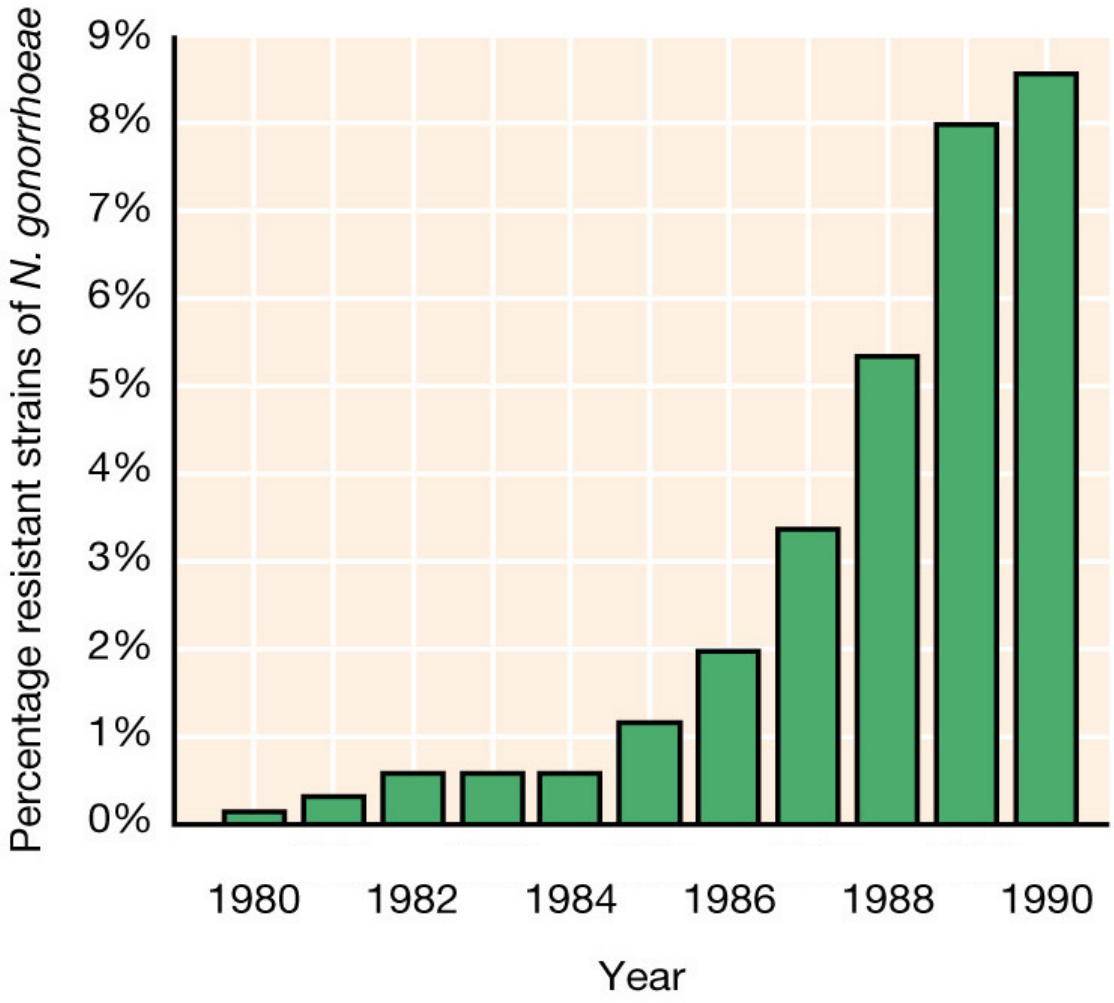
Problem:
R-Plasmide mit Resistenzmechanismen!



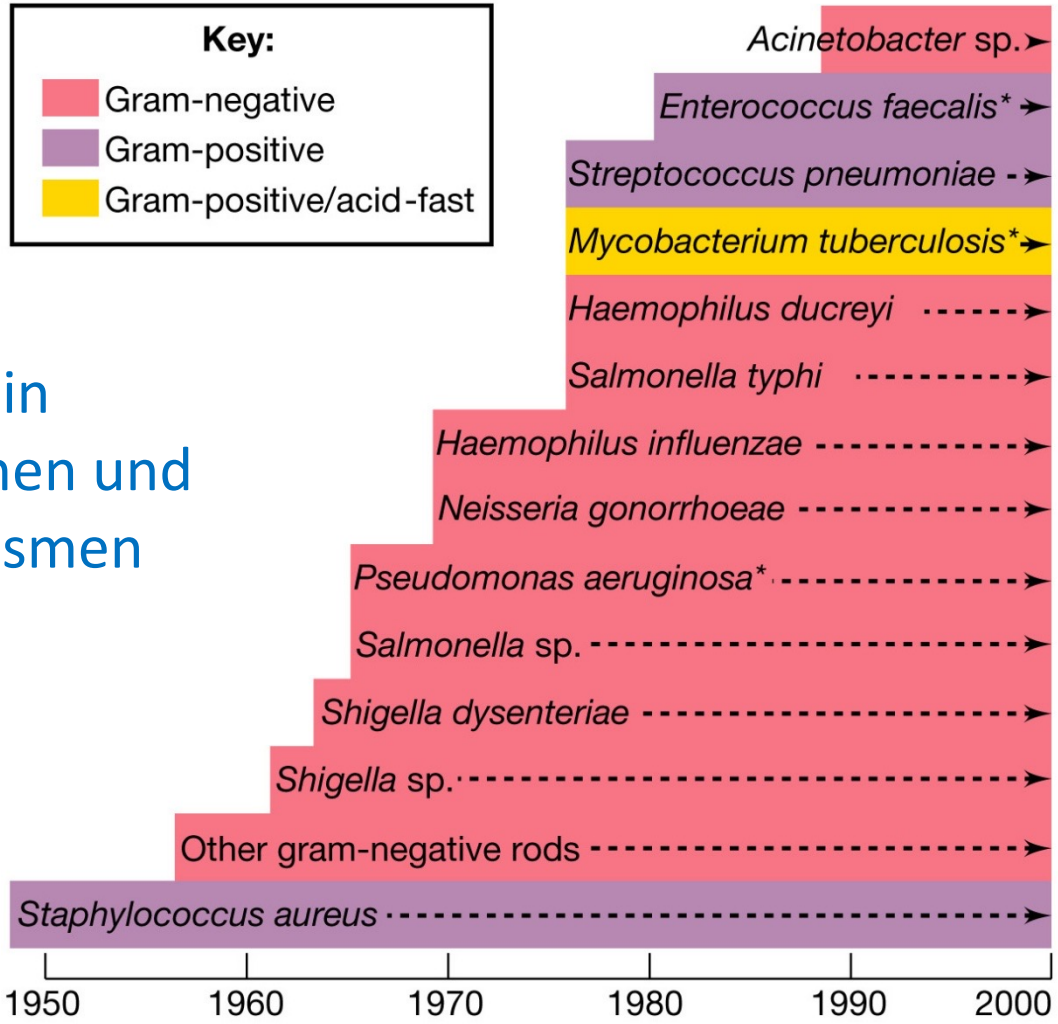
(a)

Auftreten von
Resistenzen am
Beispiel **Gonorrhoe**

Penicillin-resistente
Stämme
von *N. gonorrhoe*



Auftretende **Resistenzen** in opportunistisch pathogenen und pathogenen Mikroorganismen



*nicht mehr behandelbar aufgrund zu hoher/zu vieler Resistenzen

Woher kommen Antibiotika ?

- Antibiotika gibt es seit es Mikroorganismen gibt
- Sie dienen der Verteidigung und zur Etablierung der eigenen Spezies (Ausschalten der Konkurrenz)
- Mikroorganismen synthetisieren derart komplexe Strukturen nur, wenn dies auch Vorteile für sie ergibt

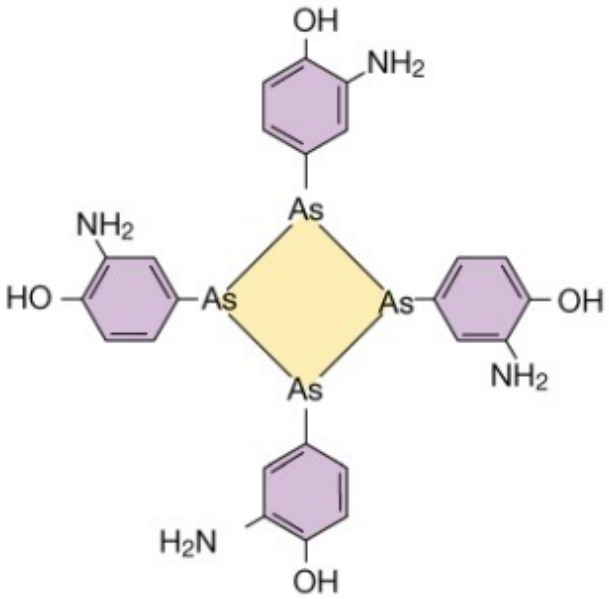
- **1908:** Paul Ehrlich entwickelt erste Ideen, dass Farbstoffe oder andere Agenzien Mikroorganismen selektiv töten bzw. inhibieren

- **1935:** Gerhard Domagk zeigt als Erster, dass der Azo-Farbstoff Protosil bei Mäusen Streptokokken-Infektionen verhindert und Menschen mit solchen Infektionen heilt

- **1929:** Alexander Fleming zeigt, dass *Penicillium* das Wachstum von Staphylokokken inhibiert

- **1939:** Howard Florey zeigt, dass Penicillin Stapylokokken-Infektionen heilen kann und er initiierte die industrielle Produktion

- **1940 -1950**: Streptomycin und Tetracycline wurden eingeführt

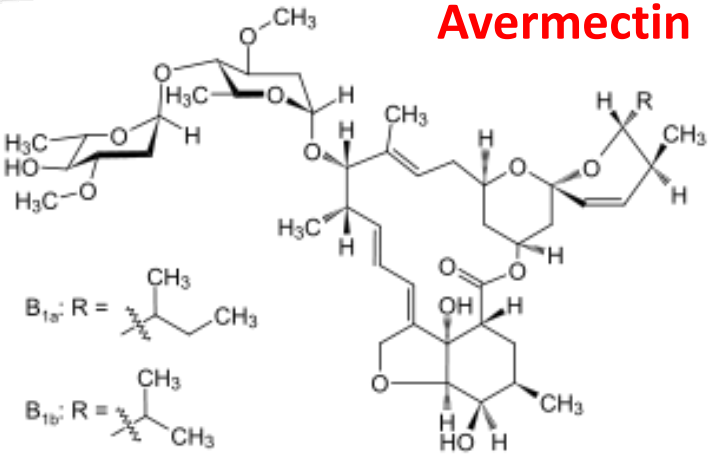


Salvarsan

Diese arsenhaltige Verbindung war einer der ersten nützlichen, antimikrobiell wirksamen chemotherapeutischen Stoffe.

Salvarsan wurde im frühen 20. Jahrhundert zur Behandlung der Syphilis eingesetzt.

Avermectin



Nobelpreis: 2015

William C. Campbell und **Satoshi Omura** erhalten Den Nobelpreis in Medizin für Arbeiten zur Bekämpfung von:

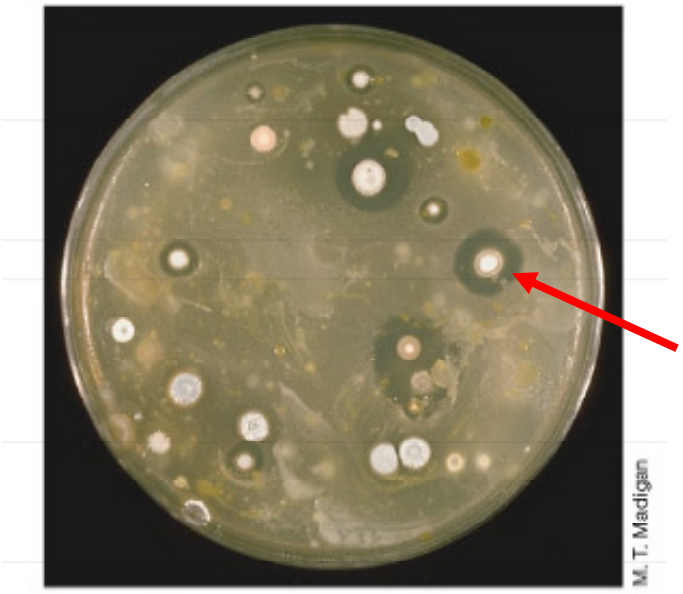
Onchocerca volvulus:
Erreger der Flussblindheit

Wucheria bancrofti:
Erreger der Elephantiasis

Streptomyces avermitilis

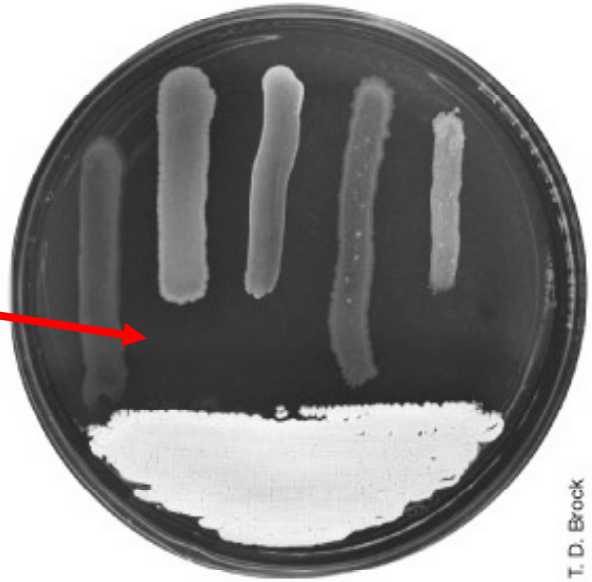
Isolierung neuer Antibiotika

- Verdünnung von Mikroorganismen aus Böden und anderen Habitaten

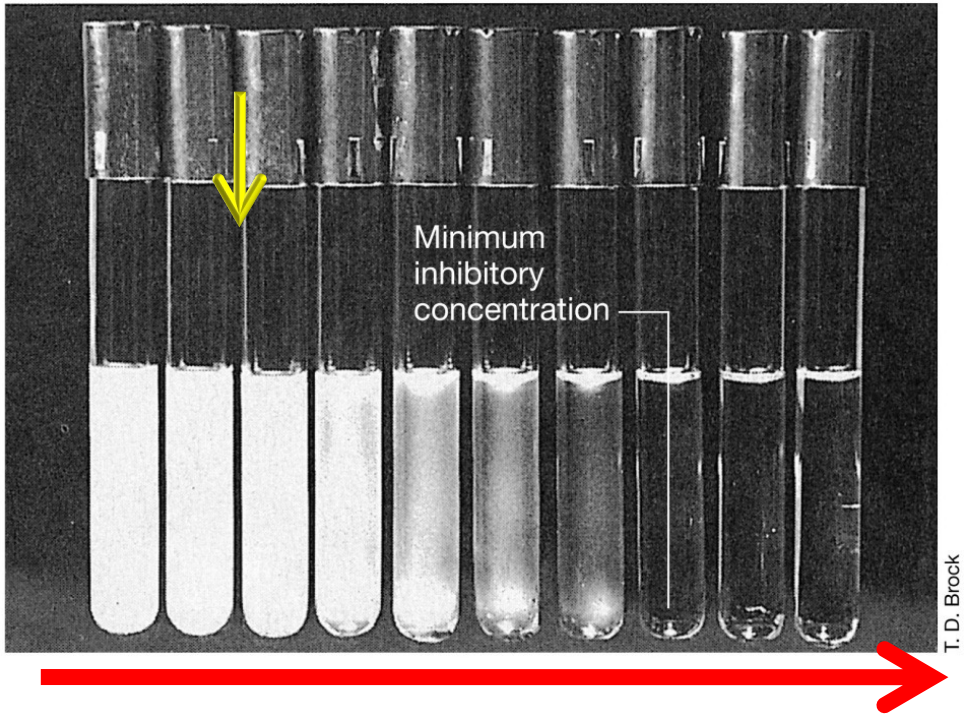


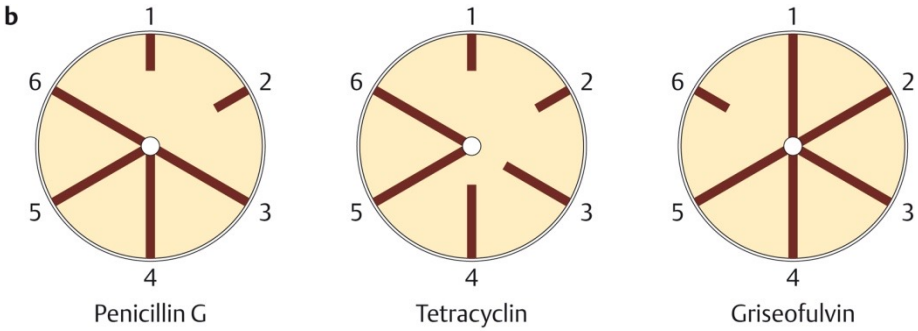
- Isolierte Produzierer werden dann mit bekannten Organismen auf einer Platte getestet

Inhibition



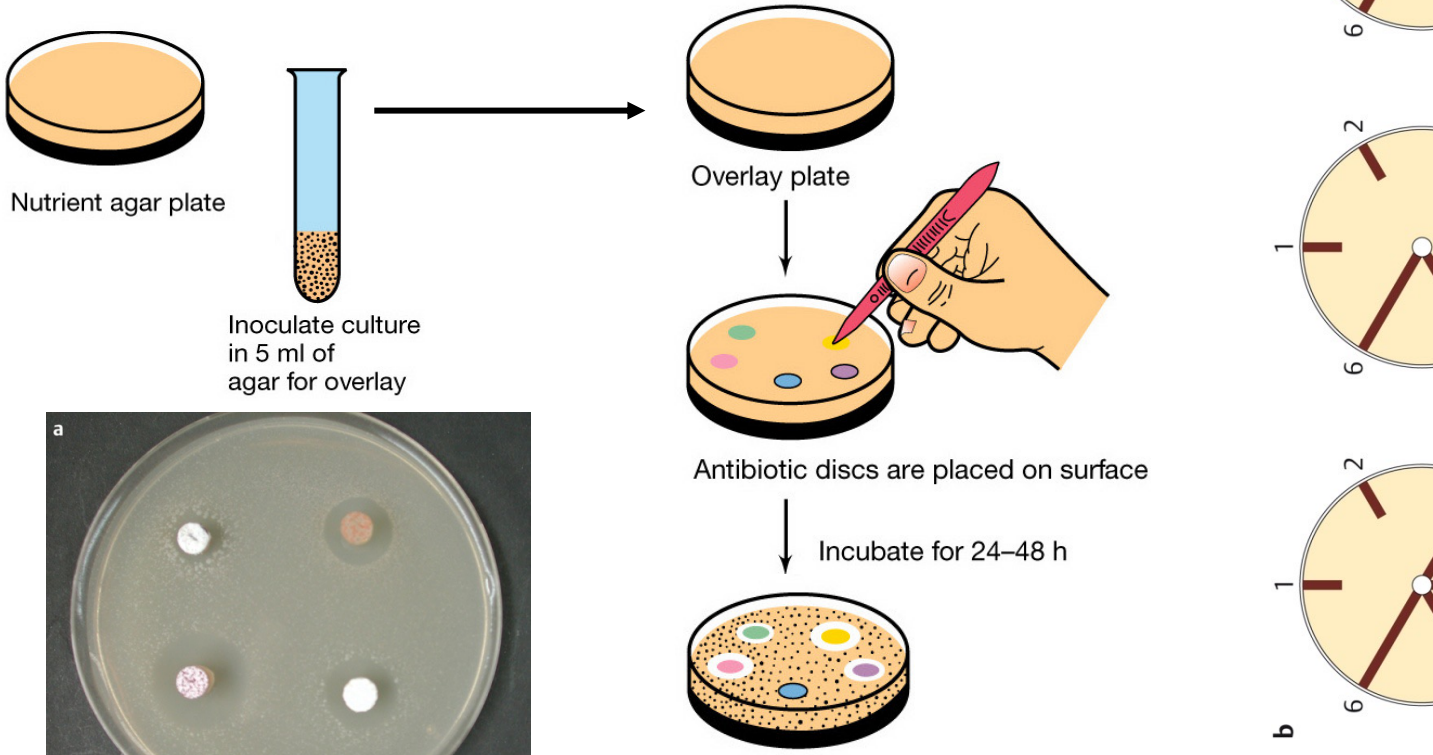
Bestimmung der
Minimalen
Inhibitorischen
K(C)onzentration (MIC)

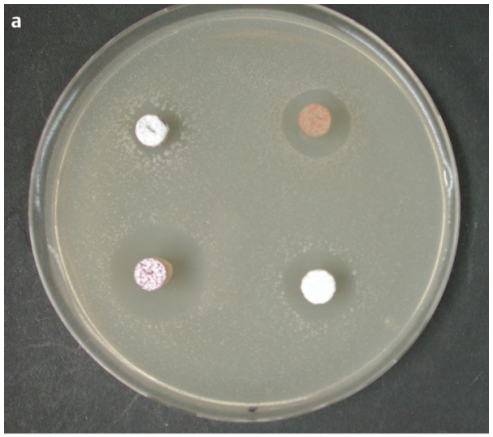


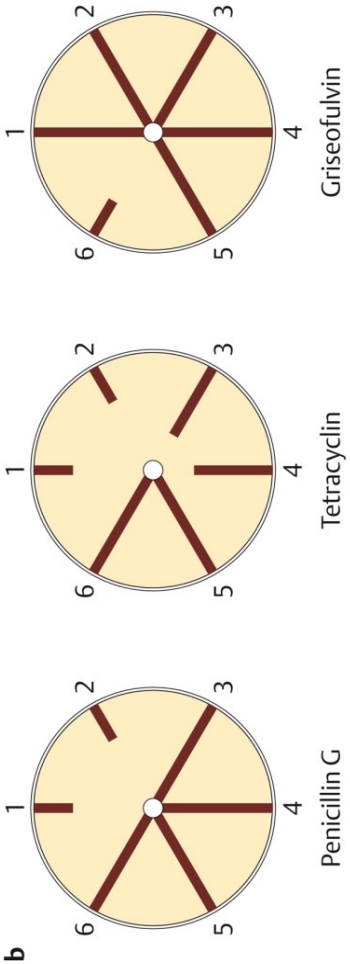


Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Testen der Sensitivität gegenüber Antibiotika oder anderen Wirkstoffen


Nutrient agar plate
Inoculate culture in 5 ml of agar for overlay
Overlay plate
Antibiotic discs are placed on surface
Incubate for 24–48 h
Test organism shows sensitivity to some antibiotics, indicated by inhibition of bacterial growth around discs (zones of inhibition) after incubation





Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Einteilung von Antibiotika

Wirkorte in der Zelle

Strukturen ausgewählter Antibiotika

Resistenzmechanismen

Antibiotika werden anhand folgender Kriterien eingeteilt:

- chemische Struktur
- Funktion/Mechanismus und Zielmolekül
- Verwendung im klinischen Bereich

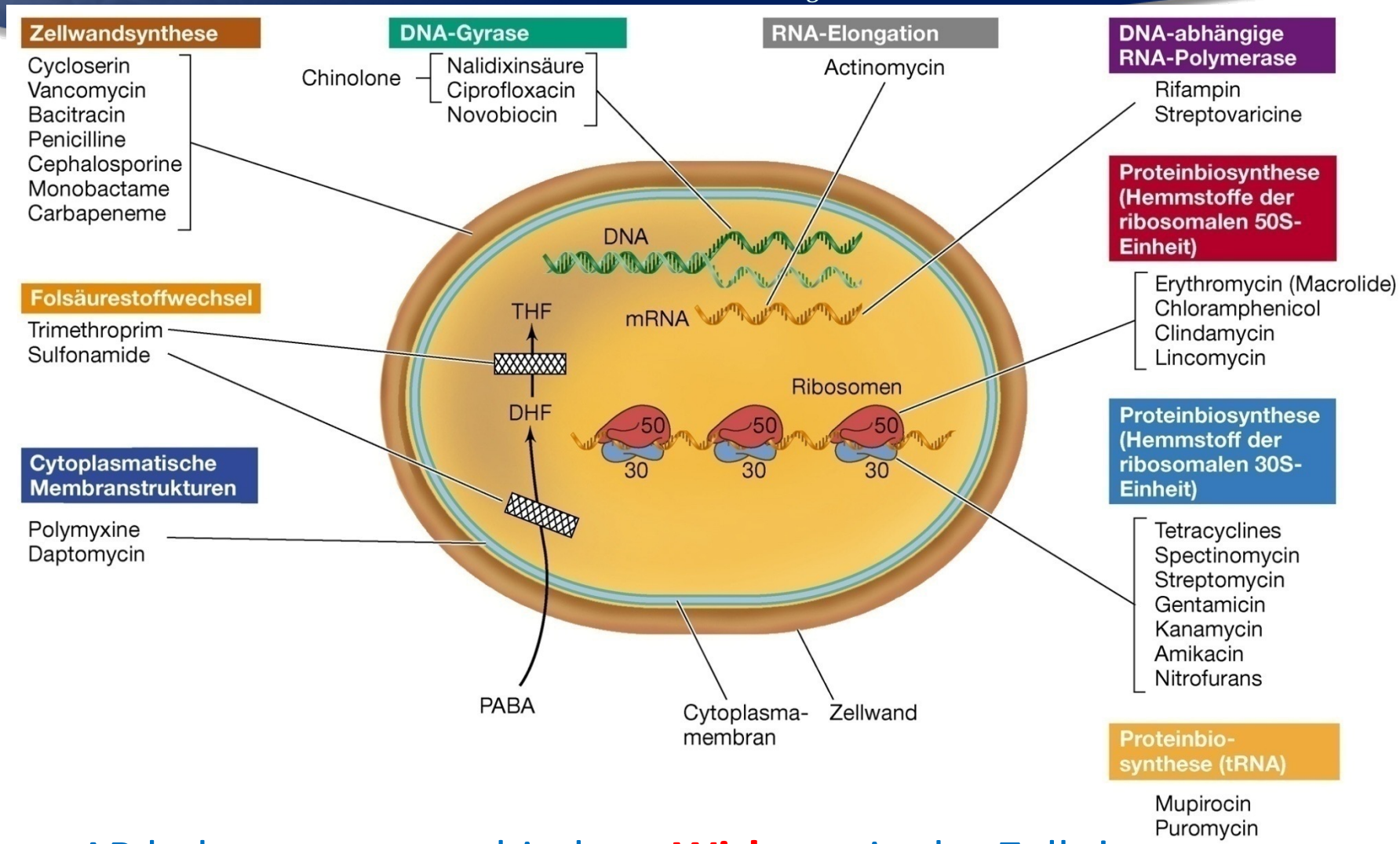
Im Wesentlichen gibt es vier Wirkmechanismen:

- Inhibition/Zerstörung der Zellwandsynthese oder der Zellwandstruktur
- Inhibition der Proteinbiosynthese
- Inhibition der DNA/RNA-Synthese
- Antimetabolite

1. Zucker-enthaltende AB
    1. Einfache Zucker
    2. Aminoglycoside
    3. N-Glycoside
    4. C-Glycoside
    5. Glycolipide
2. Macrolid-AB
    1. Macrolid
    2. Polyene
    3. Ansamycin
    4. Macrotetrolides
3. Quinon-AB
    1. Tetracycline
    2. Anthracycline
    3. Napthoquinone
    4. Benzoquinone

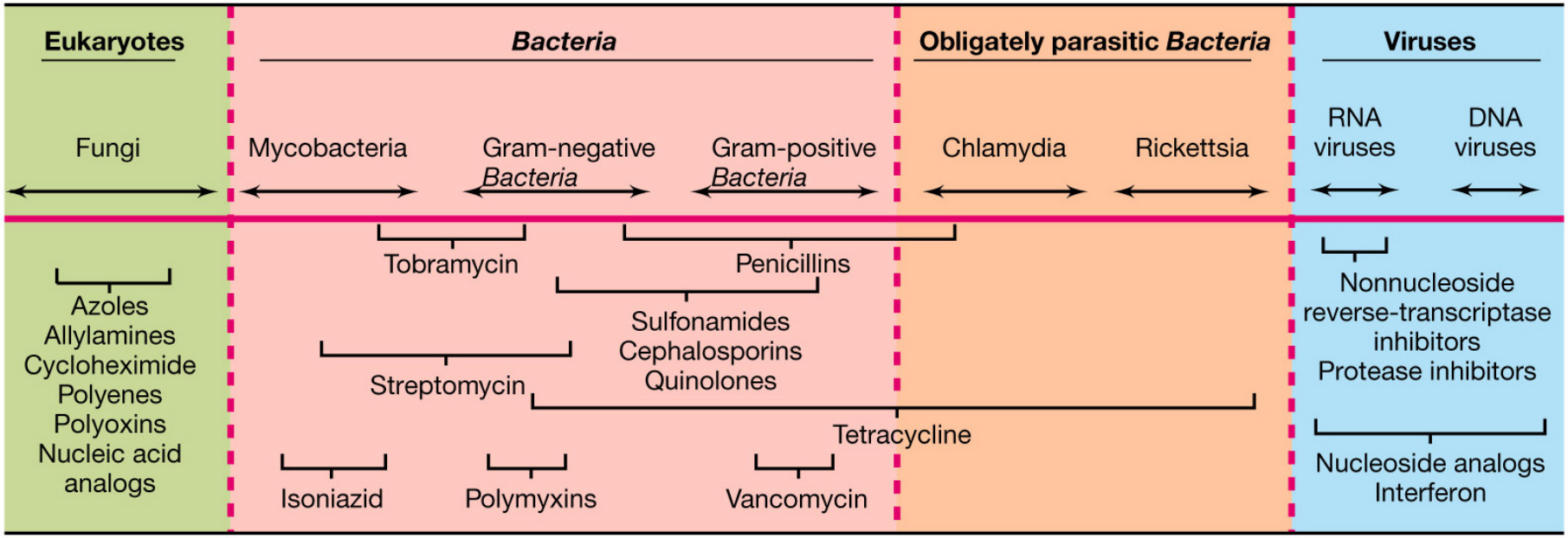
> 30 Antibiotika-Klassen und Subklassen

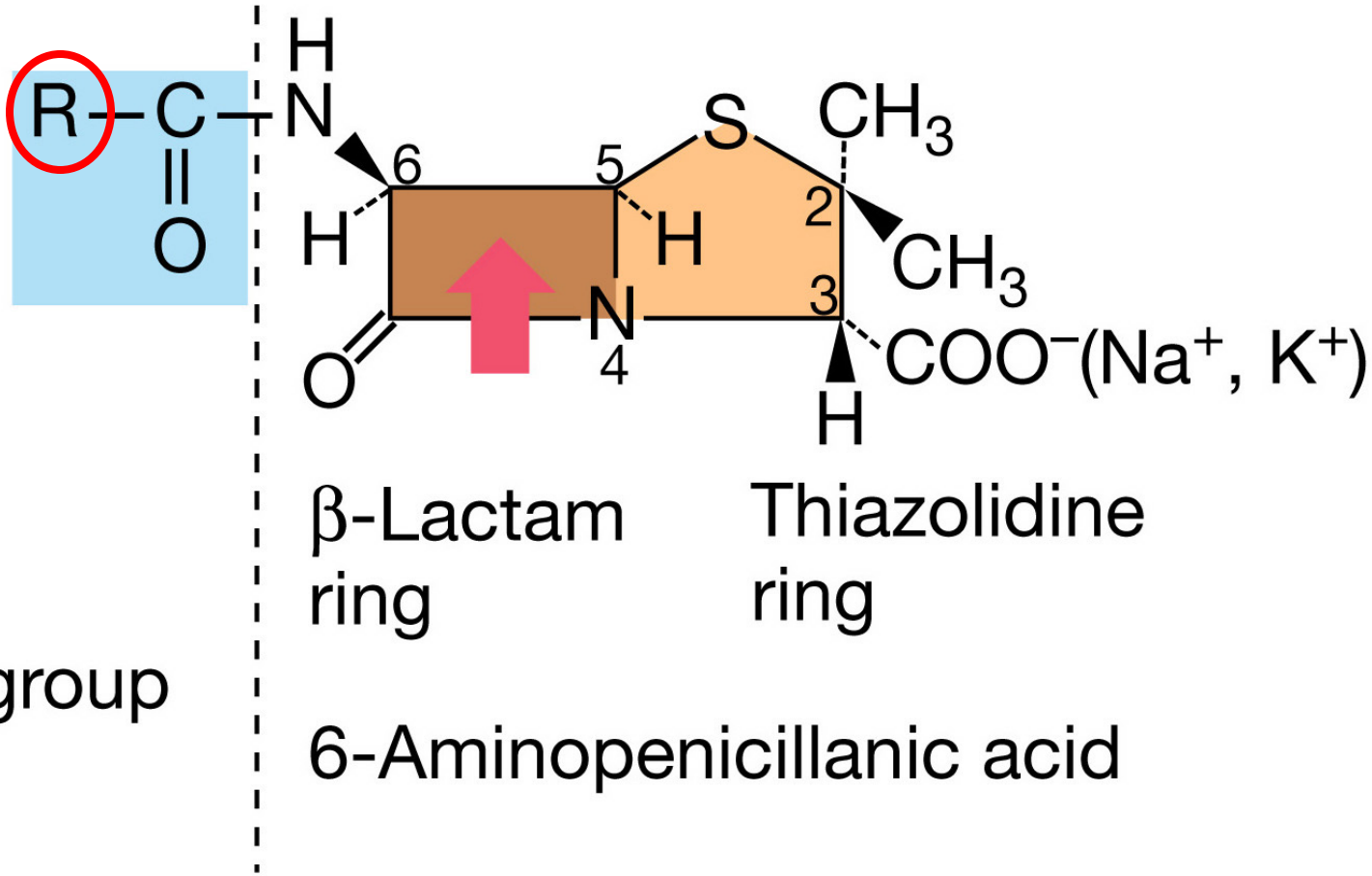
4. Amino-Säure und Peptid-AB
    1. AA-Derivate
    2. ß-Lactame
    3. Peptide
    4. Chromopeptide
    5. Depsipeptide
    6. Chelatierende Peptide
5. Heterocycl. und N-enthaltende AB
    1. Nucleosid-AB
6. Heterocycl. und O_2-enthaltende AB
    1. Polyether AB
7. Alicyclische AB
    1. Cycloalkane
    2. Steroid-Derivate
8. Aromatische (3 Subklassen)
9. Aliphatische (1 Subklasse)
10. Quinolone (2 Subklassen)
11. Oxazolidinone (1 Subklasse)

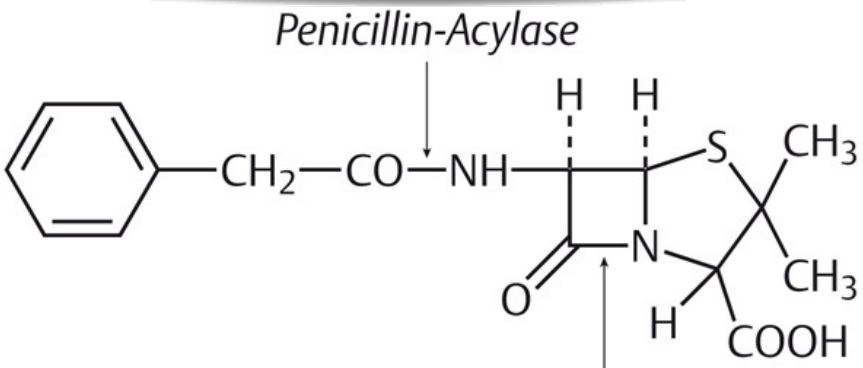


AB haben ganz verschiedene **Wirkorte** in der Zelle!

Antimikrobielles Spektrum für ausgewählte Wirkstoffe

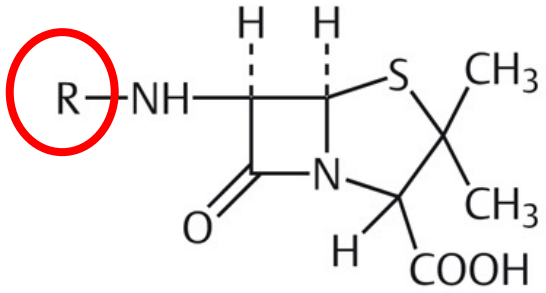



R
C
O
H
N
6
5
S
CH3
2
H
H
CH3
3
N
4
O
COO⁻(Na⁺, K⁺)
H
β-Lactam ring
Thiazolidine ring
N-Acyl group
6-Aminopenicillanic acid

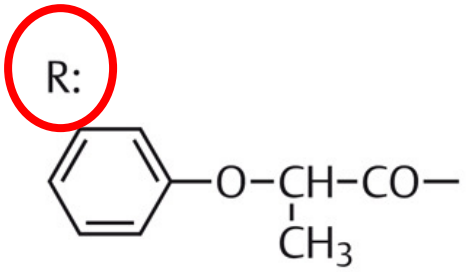


Penicillin G

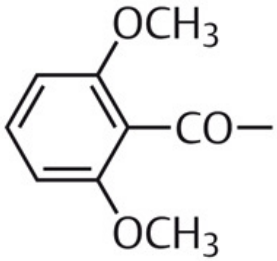
Penicillinase
(β-Lactam-Spaltung)



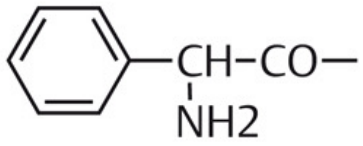
6-Aminopenicillansäure
(R = H)



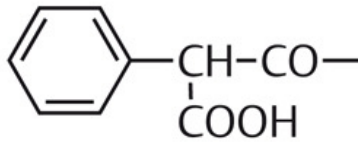
Phenethicillin



Methicillin



Ampicillin



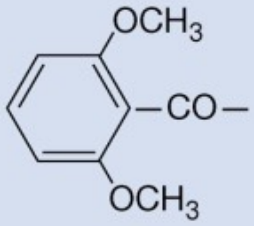
Carbenicillin

Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

HALBSYNTHETISCHE PENICILLINE

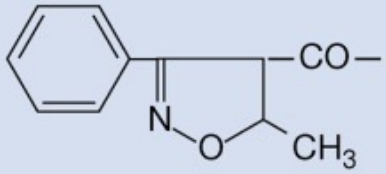
Methicillin

säurestabil
β-lacatamaseresistent



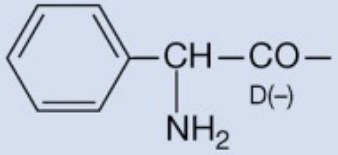
Oxacillin

säurestabil,
β-lactamaseresistent



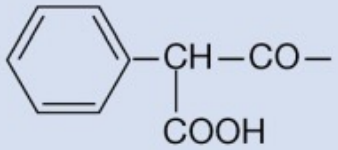
Ampicillin

verbreitertes Wirkspektrum (besonders gegen gramnegative Bakterien), säurestabil, β-lacatamaseresistent



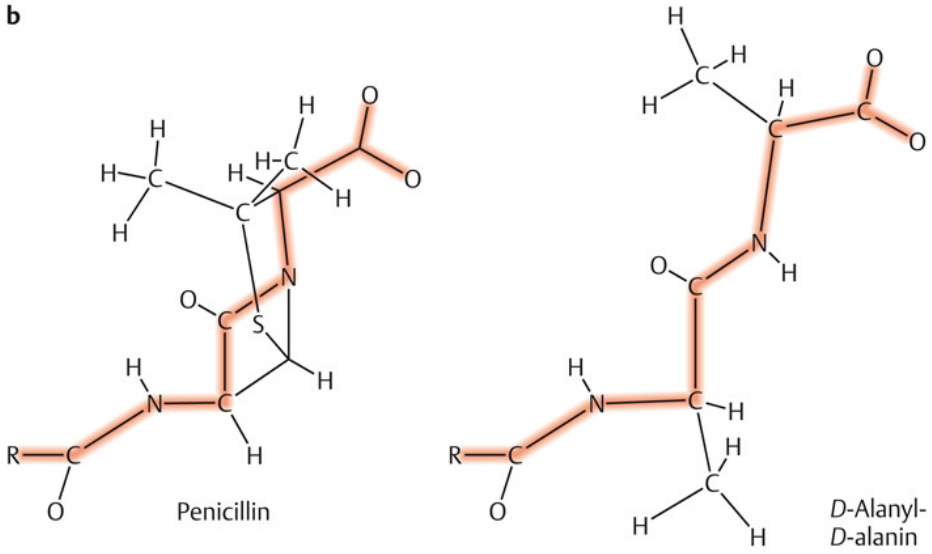
Carbenicillin

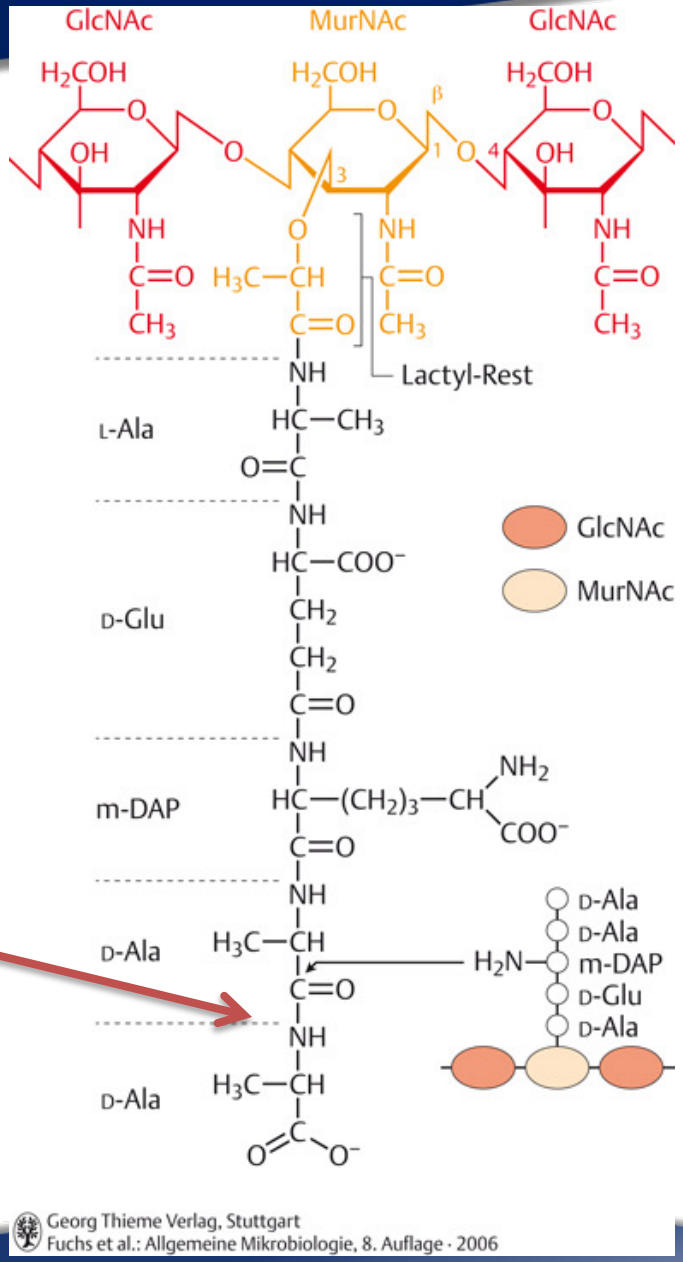
verbreitertes Wirkspektrum (besonders gegen *Pseudomonas aeruginosa*), säurestabil, aber peroral unwirksam, β-lacatamasesensitiv



Wie wirken Penicillin-Antibiotika?

Hemmung der Mureinbiosynthese
es wird der letzte Schritt der Zellwandbiosynthese,
die Transpeptidase, irreversibel geblockt



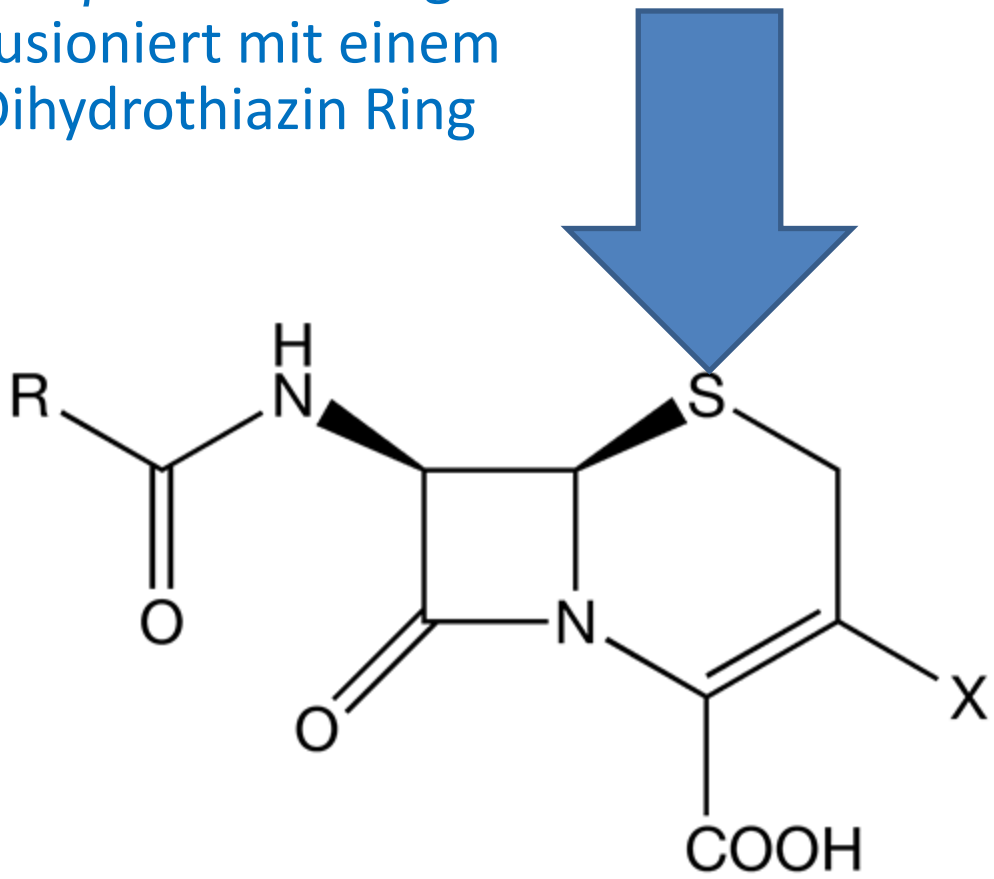


Keine Quervernetzung mehr möglich!

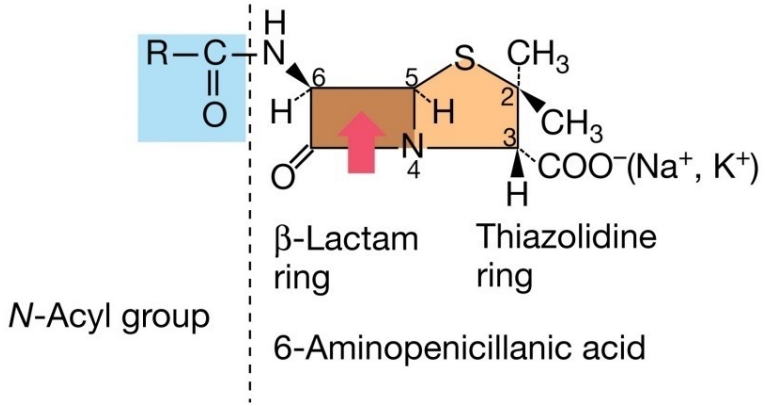
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Cephalosporine sind β-Lactam-Antibiotika

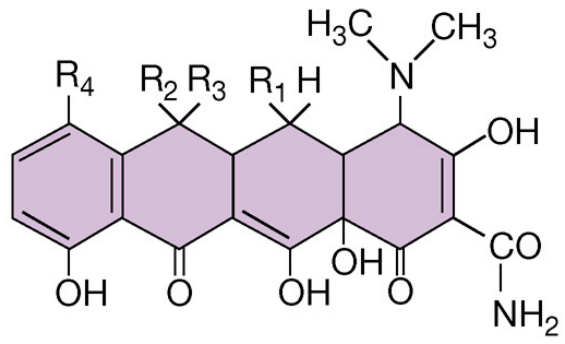
Der β-Lactam-Ring fusioniert mit einem Dihydrothiazin Ring



Im Vergleich Penicillin



Tetracyclin

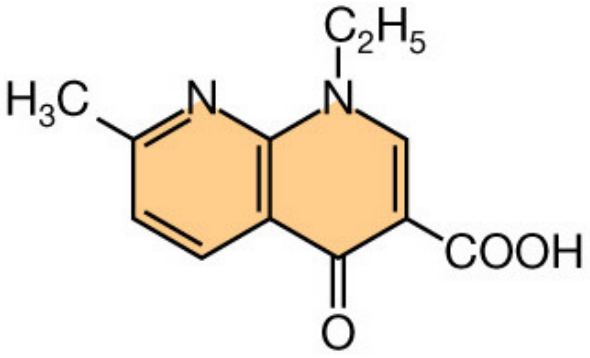


Tetracyclinanalogon	R_1	R_2	R_3	R_4
Tetracyclin	H	OH	CH_3	H
7-Chlortetracyclin (Aureomycin)	H	OH	CH_3	Cl
5-Oxytetracyclin (Terracyclin)	OH	OH	CH_3	H

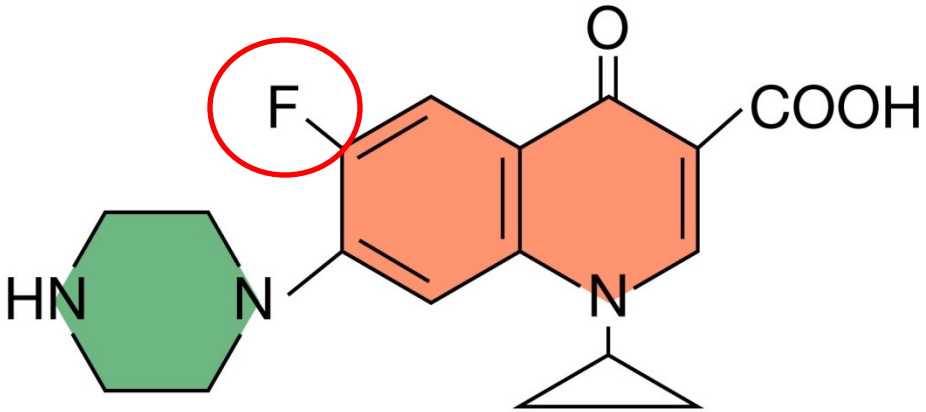
- **Tetracycline** binden an die 30S UE der Ribosomen und greifen so in die Proteinbiosynthese ein
- **Tetracycline** sind neben den ß-Lactam AB eines der wichtigsten Breitbandantibiotka
- Struktur:
  - Naphthacen Ring System
  - R1, R2, R3 und R4 variabel

Quinolon-Antibiotika

- **Ciprofloxacin** ist ein Fluor-Derivat der Nalidixinsäure und hemmt die DNA-Gyrase



Nalidixic acid



Ciprofloxacin

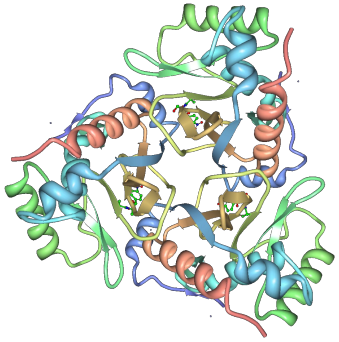
Resistenzmechanismen

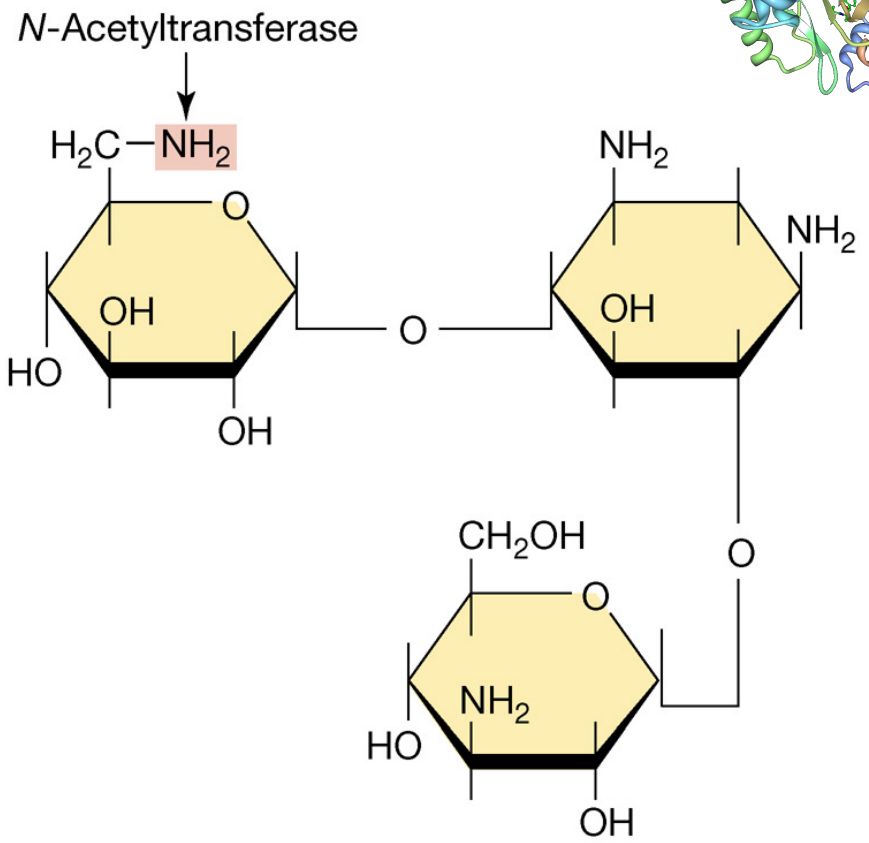
1) Abbau oder Modifikation
2) Transport aus der Zelle
3) Zielmolekül verändern
4) Aufnahme inhibieren

5) Resistenz-Transfer mittels Austausch von DNA-Material

6) Aktivieren von Anti-Stress Regulons

1. Antibiotikum verändern

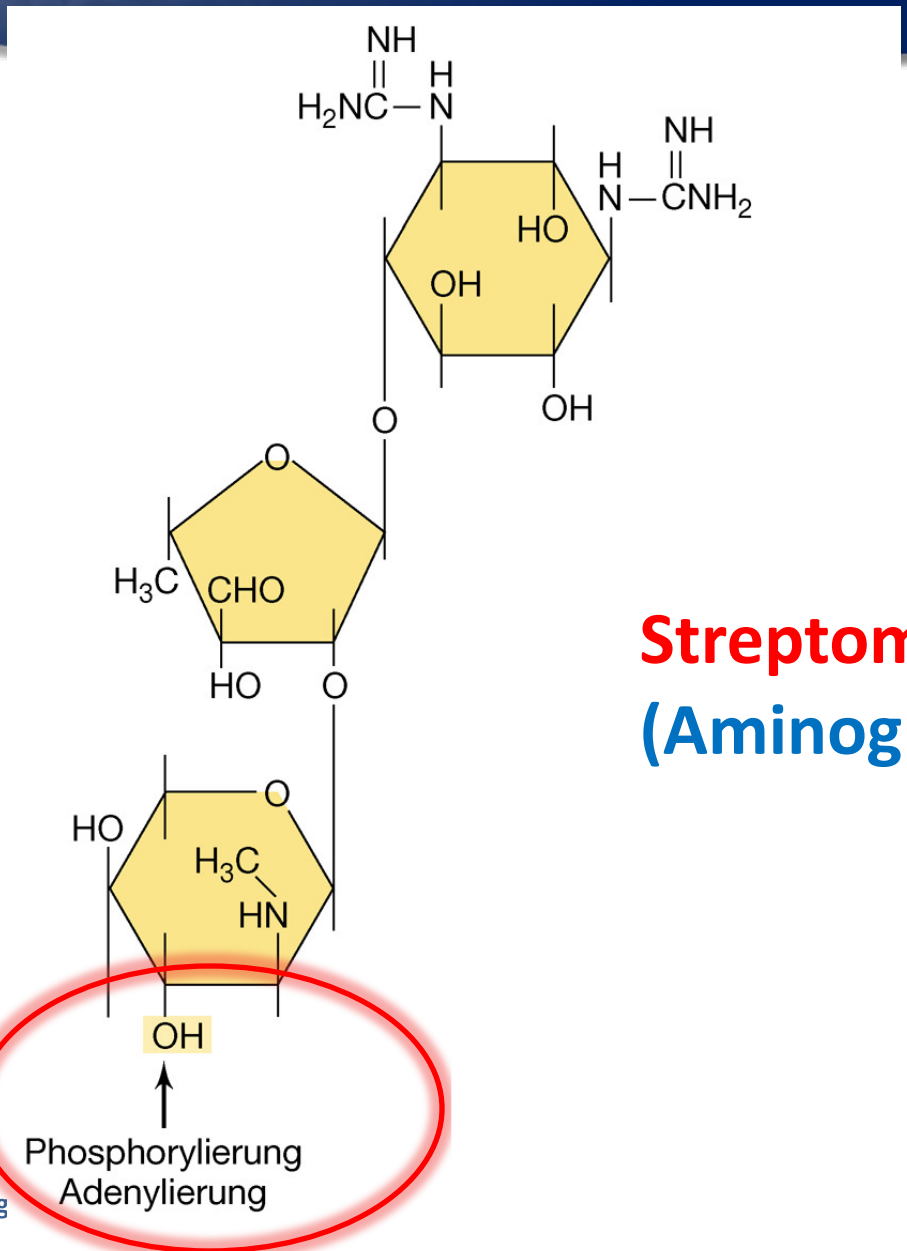




Kanamycin (Aminoglycosid-AB)

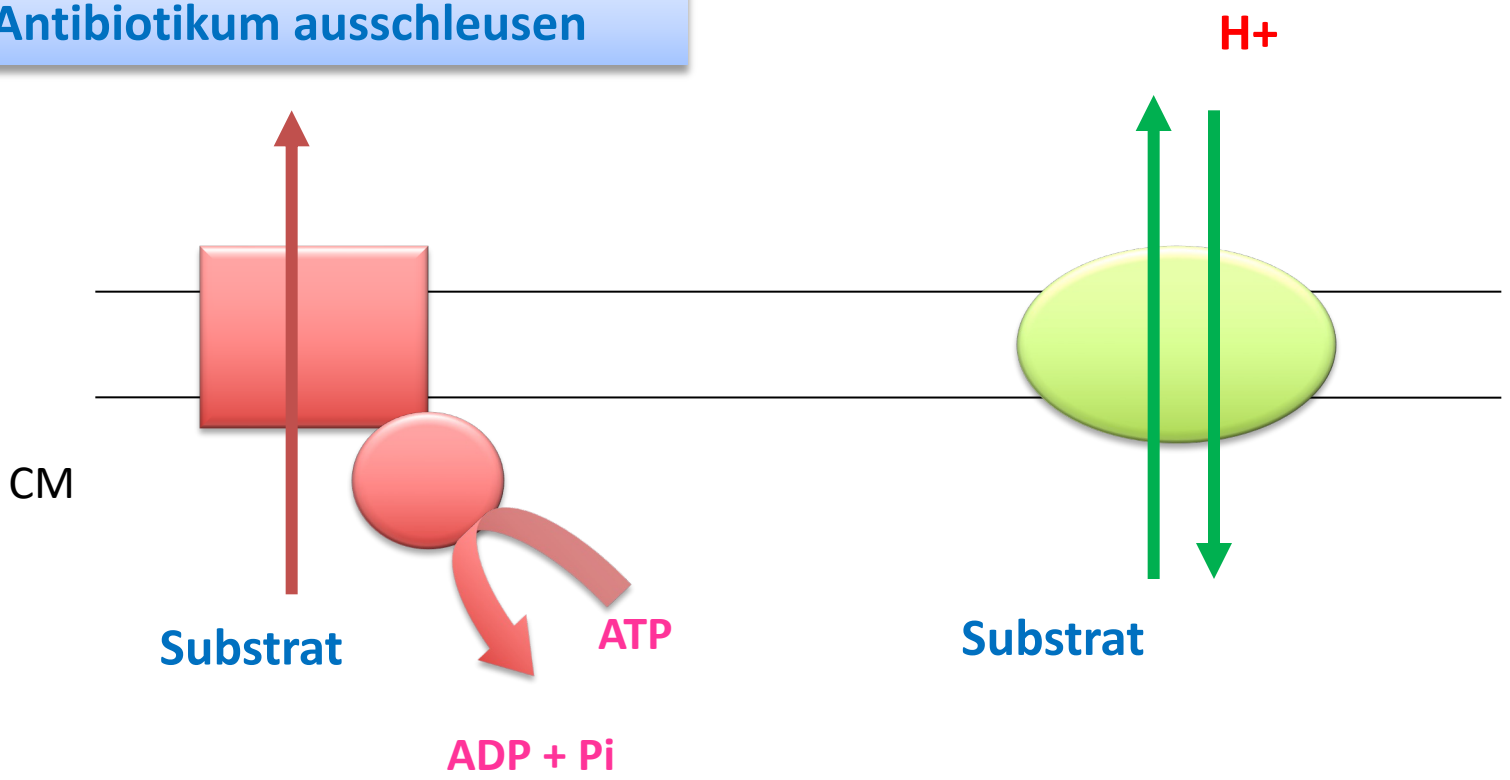
Aminogruppen anfügen oder auch Phosphorylierung inaktivieren den Wirkstoff Aminoglykosid

-N-Acetyltransferasen
-Phosphotransferasen



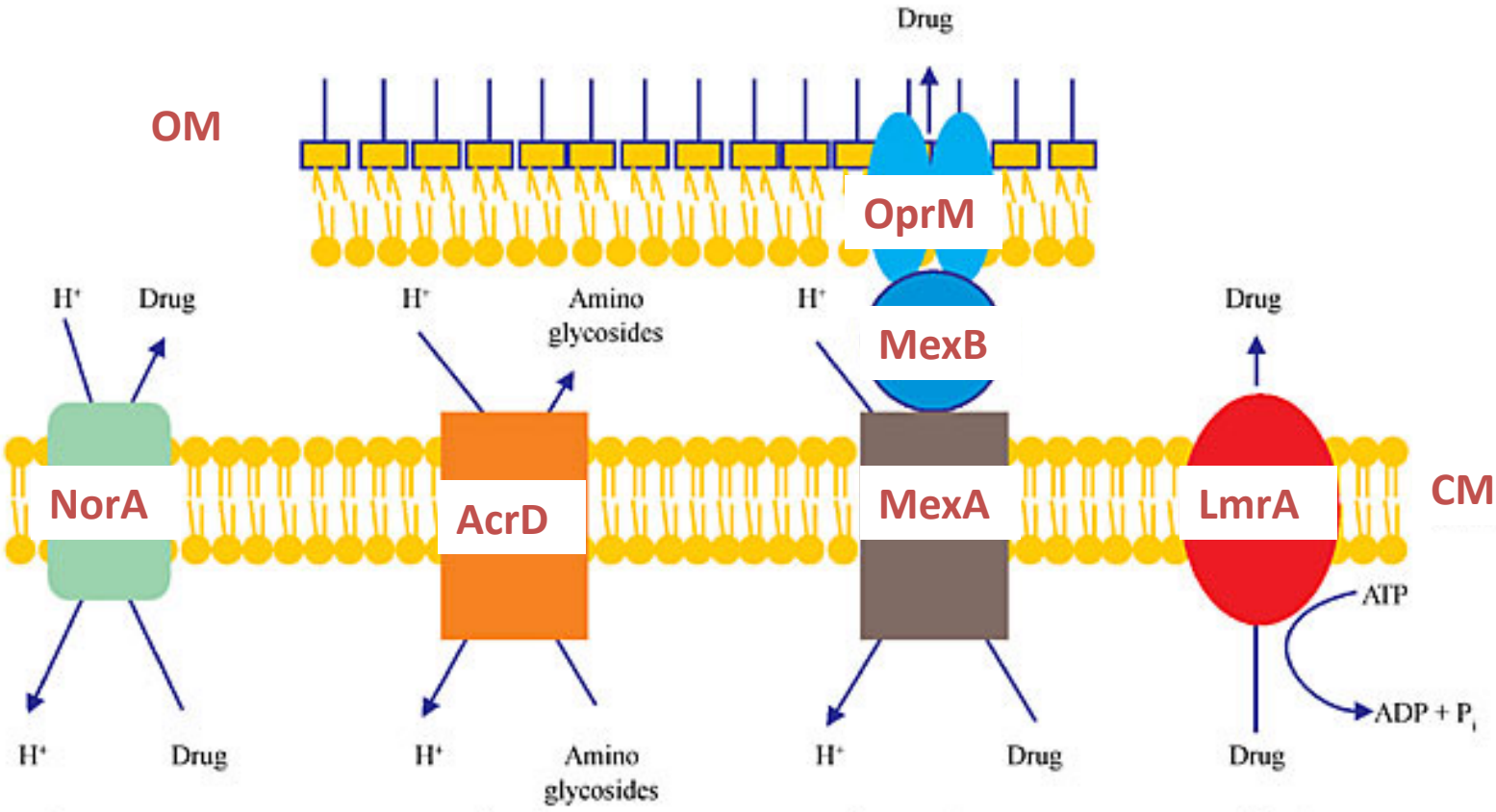
Streptomycin
(Aminoglycosid-AB)

2. Antibiotikum ausschleusen



ABC- Typ

Major-Faciliator-TyP

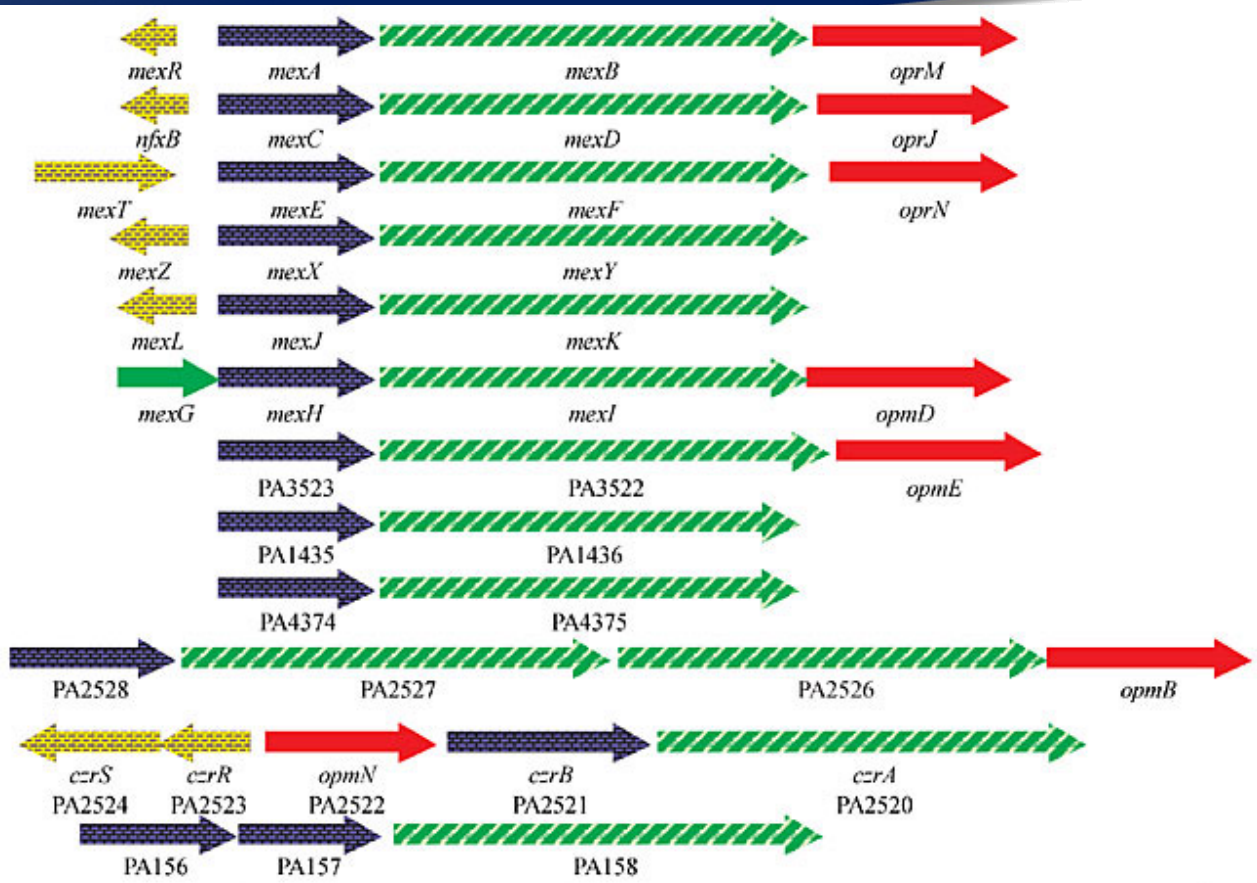


S. aureus ***E. coli*** ***P. aeruginosa*** ***L. lactis***

MATE **RND** **RND** **ABC**

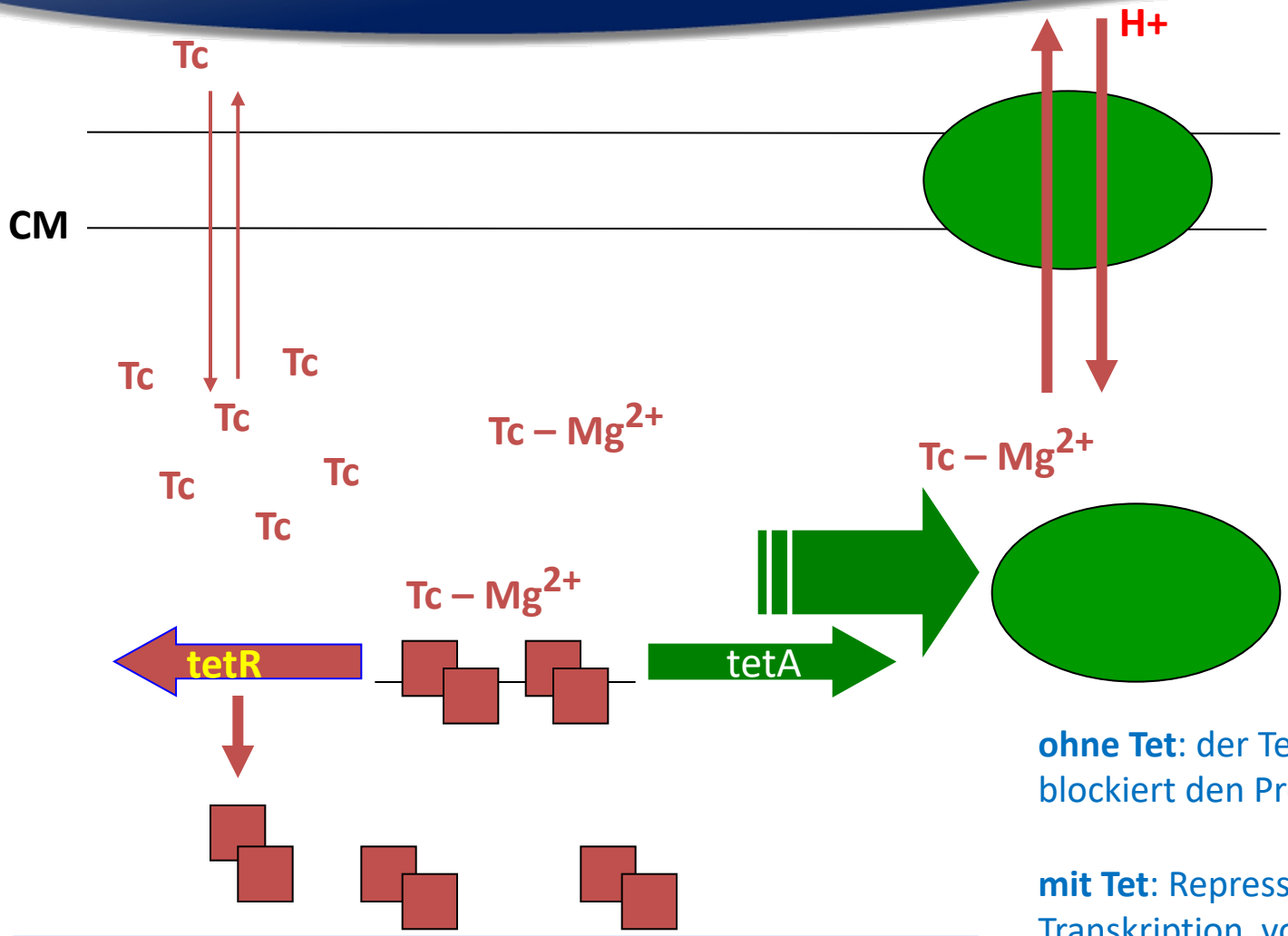
Resistance Nodulation and Cell-Divison

Multidrug and Toxic Compound Extrusion



***Pseudomonas aeruginosa*: Multi drug extrusion Gene (Mex)**

Mindestens 11 unterschiedliche Transportsysteme



ohne Tet: der TetR Repressor blockiert den Promoter des *tetA* Gens

mit Tet: Repressor fällt ab; Transkription von *tetA* startet

TetA - das Modell eines MF-Typ-Transporters

PLASMIDE
Grundlage für Resitenzausbreitung

Definition:

- **Extrachromosomale DNA**
  (kann z.T. in Genom integriert und auch wieder ausgeschnitten werden)
- **repliziert sich selbst**
- **ca. 2 bis 1200 kb**
- **zirkuläre, manchmal auch lineare Plasmide (Streptomyceten, Streptokokken, Nocardia)**
- **Zellen sind ohne Plasmid oft auch lebensfähig, d.h. es wird nicht essentielle Information kodiert**

(„Curing“: UV, Mitomycin C, Acridin Orange)

Fertilität

F-Plasmid für Konjugation von *E.coli*

Plasmide für Sexualhormone (Synthese von Adhäsin): *Staphylococcus aureus*

Resistenz

R (=Antibiotika-Resistenz-Plasmide)

Schwermetallresistenz: Quecksilber (Hg), Nickel (Ni), Cobalt (Co), Cadmium, (Cd), Zink (Zn), Kupfer (Cu), Arsen (As), Antimon (Sb), Tellur (Te), Silber (Ag)

Bakteriozin ---> *E.coli*: Colizin (z.B. ColE1)

Pyozin ---> *Pseudomonas*

Megazin ---> *Bacillus megaterium*

Pathogenität/Virulenz

TI-Plasmid: z.B. Integration von Gen für BT-Toxin in Pflanzen

zahlreiche Hämolysine (Wirkung auf Erythrozyten)

Siderophore ---> Chelatoren: z.B. für Fe (Fe-Mangel: Enterobacteriaceae)

Synthesen, metabolische Aktivitäten

z.T. Megaplasmide (300-1200 kb):
Stickstoff-Fixierung (SYM-Plasmide der Rhizobien)..als bestes Beispiel

Abbau

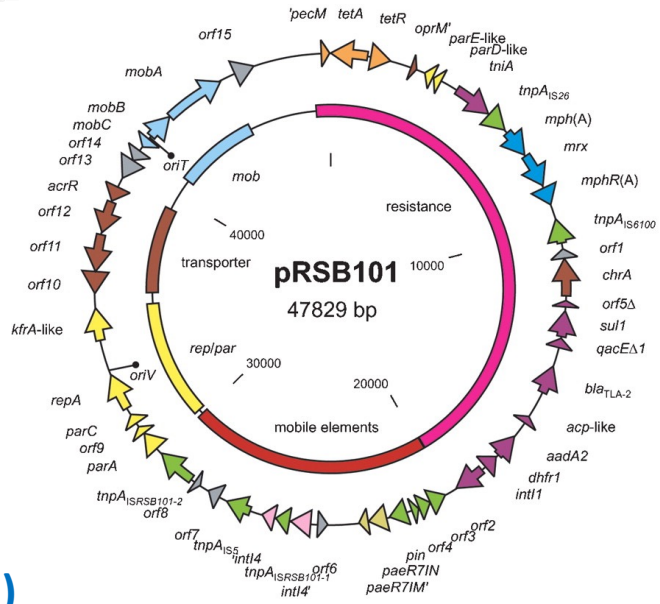
z.B. Toluol-Abbau (TOL-Plasmid von *Pseudomonas putida*)
Xylene, Naphtaline, chlorierte Verbindungen...

Restriktions-,Modifikationssysteme

bakterielle Abwehr: zerschneidet Fremd-DNA (z.B. palindromische Sequenz)
schützt eigene DNA (Methylierung)

Resistenz ---> R
(=Antibiotika-Resistenz-Plasmide)

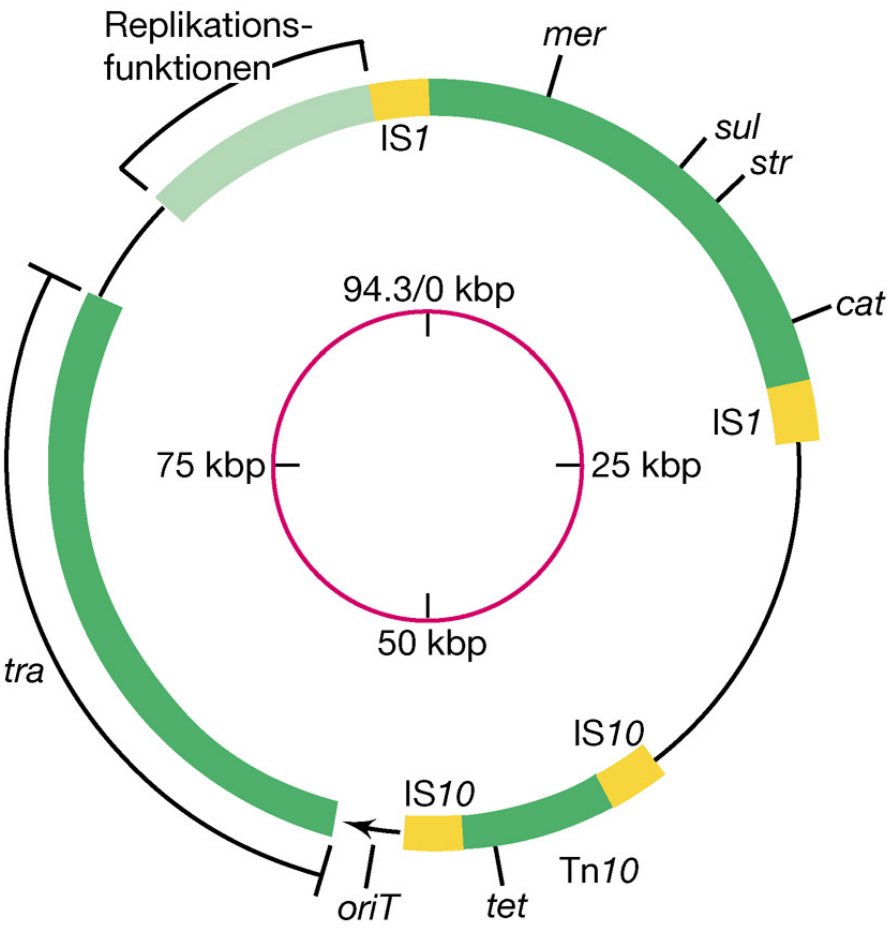
z.T. mehr als 8 Resistenzen auf einem Plasmid



älter als eingesetzte Antibiotika, z.B.

Ampicillin et al.:	**β-Lactamase: Ringspaltung (*bla*-Gen)**
Chloramphenicol:	**Acetyltransferase: Acetylierung**
Kanamycin, Neomycin:	**Phosphotransferase: Phosphorylierung**
Streptomycin:	**Adenyltransferase: Adenylierung**
Tetracyclin:	**Membrantransport: Export (*tet*-Gen)**

Microbiology 2004 vol. 150 no. 11 3613-3630



Genetische Karte des Resistenzplasmids R100

oriT	Ursprung des konjugativen Transfers
mer	Quecksilberionresistenz
sul	Sulfonamidresistenz
str	Streptomycinresistenz
tet	Tetracyclinresistenz
tra	Transferfunktionen

F (=Fertilitäts-) Faktoren

F-Plasmid von *E. coli*:
ca. 100 kb, ca. 60 Gene,
extrachromosomal oder
integriert in Genom,
notwendig für die Konjugation

TRA (=Transfer)-Gene: Sexpilus
oriT=Transfer-ORI
oriV=vegetativer ORI